

ACQUITY UPLC[™]/PDAによるバイオサイドの分析(Ⅱ) カスタム計算式を用いた合否判定

Application Note No. 720001833J

概要

ACQUITYUPLCTM/PDAによるバイオサイドの分析(I)では、 バイオサイド6化合物を分析時間3分で分離するメソッドを 開発し、PDAライブラリ検索・純度検定の有用性を、定量 結果とともに示しました。「このアプリケーションノートでは 続編として、カスタム計算式※による定量結果の自動合否 判定についてご紹介します。Empower2ソフトウエアでシ ンプルなカスタム計算式を作成し、サンプル中のバイオサ イド成分濃度が設定値に対し合格か不合格かを判定させ ました。このようなタイプのカスタム計算式の利用は、生産 性の向上だけでなく、ヒューマンエラーを防ぐためにも役 立ちます。



サンプルと化合物名称

Kathon X CG/ICP; 1a 2-methyl-4-isothiazolin-3-one; 0.4% <u>1b</u> 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one; 1.2%

2 Carbendazim

- 3 Benzisothiazol-3(2H)-one
- **<u>4</u>** 2-phenoxyethanol
- 5 Benzoic acid
- **<u>6</u>** Methylparaben

※Kathonはローム・アンド・ハース社の商標です。

分析条件

装置

Waters ACQUITY UF	PLC™ PDA システム
ソフトウエア:	Empower2
カラム:	ACQUITY UPLC BEH C18
	$2.1 imes50$ mm , $1.7~\mu$ m
カラム温度:	30℃
移動相:	A) 0.05 % TFA/水
	B) 0.05%TFA/アセトニトリル
流速:	1.OmL/min.
グラジェント:	5%Bから15%Bまで2.9分
弱洗浄溶媒:	水/アセトニトリル 95/5
強洗浄溶媒:	水/アセトニトリル 50/50
注入量:	5 μΙ
検出器:	PDA 210-500nm
サンプリング速度:	20ポイント/秒



1 4		
	ate	rc
V V	uic	J

図1.カスタムフィールド新規作成ウィザード データと種類の設定

カスタムフィールド新規作	成ウィザード・データと種類の選択	
Abcdefahik 4 + y = z 4 + y = z	サンブル、成分、サンブルセット、結果、ビークまたは分子 量分布曲線の含えライスからフィールドの種類を選択して (だくい。 フィールドの種類 ・サンブル(S) に結果(R) ビビーク(P) ・サンブルセット(A C成分(C) 分子量分布(U) 入力されたり、計算されたりするカスタムフィールドのデータ の種類を選択してんだとい。 データの種類 ・ 整数(I)(0) テキスト(T) 真偽型(D) ・実数(E)(0.0) 日付(D) ・ 列掌型(M)	
	< Back Next > Cancel He	lp

図2. カスタムフィールド新規作成ウィザード 入力元の設定

カスタムフィールド 新規	見作成ウィザード - 入力元の設定 🛛 🔀
6789 Abcc	データがどこから入力されるか選択してください - データの入力元
Abcdefghiik	「データの入力を要求する(D) 既定値(∨):
Abcdefghi	検索順: 音い換えの種 結果セットから 「全てまたは無し(A) サンブルの種 未知時式料のみ
	ピークの種 グループピークのみ ▼ F 未検出ピーク < Back Next> Cancel Help

図3. カスタムフィールド新規作成ウィザード 式の入力

6789 Abcc 7/-// 2145677 K(E)=	ENUM(LT(濃度,4.85),L1	E(濃度,5.15)	.GT(濃度,5.15))	
Abodefehilik 4 bodefehilik (123457) Abodefehilik (123457) Abodefehil (123457) Abodefehil (123457) Abodefehilik (123457) (1234577) (1234577) (1234577) (1234577)	ド(F): 量 量 除言果) 税明 成分Apex 目のチャンネルID		實算子(0): ENUM(EQ(GT(GTE(LOG(▲	LT LT M/ MI NE R/
2ζ-λ	ドや演算子をダブルクリック く Back Ne	すると式の最行 	参尾に付け加えられ Cancel	1.# Help

バイオサイドのQC評価基準の例

Kathon 濃度<4.85ppm:不合格 Kathon 濃度>5.15ppm:不合格 4.85ppm<Kathon 濃度<5.15ppm:合格

カスタム計算式の作成

1. Empower2ソフトウエアのメインメニューから「シ ステムの管理」をクリックしシステム管理ウィンドウ に入ります。ツリーの中の「プロジェクト」をクリックし ます。

2. 使用しているプロジェクト名を選び、右クリック から「プロパティ」をクリックします。

3. 「カスタムフィールド」タブをクリックし、「新規作 成」をクリックしてカスタムフィールド新規作成ウィ ザードに入ります。

4. データと種類の設定画面(図1)で、フィールドの種類は「ピーク」を、データの種類は「別挙型」を 選びます。次に進みます。

5. 入力元の設定画面(図2)で、データの入力元 は「計算」を、サンプルの種類は「未知試料のみ」を、 ピークの種類は「グループピークのみ」を選びます。 次に進みます。

式の入力画面(図3)で、フィールドと演算子の
 中の文字や記号を使用して以下の式を作成します。

ENUM(LT(,4.85),LTE(,5.15),GT(,5.15))

次に進みます。

X	3 4. カスタムフィールド新規作成ウィザード 言い換えの定義テーブル	
	<u>17.254.77-−ルド新規作成ウィザード - 言い換えの定義テーブル</u> Stub2000年までは、 Stub200年までは、 Stub200年までは、 Stub200年までは、 Stub200年までは、 Stub200年までは、 Stub200年までは、 Stub	
	<pre> Cancel Help</pre>	
X	3.カスタムフィールド新規作成ウィザード 名前の入力	
	カスタムフィールド新規作成ウィザード - 名前の入力 メ 6789 Abore Abore 新しいフィールドの名前を入力してください。 アイールド名前合否判定 7イールド名前合否判定	

	フィールド名(F) 合否判定	
1234567 y = Z	このフィールドを作成するプロジェクト © プロジェクト(P): UPLC_PDA_check © 複数のプロジェクト(M)	
Abcdefghij 1234		
	< Back Finish Cancel Help	

図6. カスタムフィールドの編集画面

🗣 PJL07_85G in Biocides_2 プロジェクト	UPLC_	PDA_check 그 ㅡ뷧ㅡ=Sys	stem/Administrator - 解析メソッド 編 💶 🗖 🗙
ファイル(F) 表示(V) ヘルプ(H)			
▲●● 波形解析 スムージング/オフセット 成	分 スロー	スピーク濃度 成分グループ	時間グループ ノイズおよびドリフト
成分グループ	🗳 名前	レポートされる保持時間	検量線 X値のソース 🔥
🖻 Kathon	1 Kathor	なし	各成分の合計、検量線、または定量計算用の合計ビーク
la 15			
単一成分			
L D			✓
Ready			LC //

Waters

7. 言い換えの定義の画面(図4)で、値0の言い換 えとして「不合格」、値1の言い換えとして「合格」、 値2の言い換えとして「不合格」を入力します。次に 進みます。

8. 名前の入力画面(図5)で、このカスタム計算式 の名前として「合否判定」と入力します。カスタム フィールド新規作成ウィザードを終了します。

成分グループの作成

使用している解析メソッドウィンドウ(図6)で、「成分 グループ」タブをクリックします。テキストボックスの 名前に「Kathon」を入力し、検量線X値のソースに 「各成分の合計、検量線、または定量計算用の合 計ピーク」を選びます。ツリーの単一成分にある 「1a」と「1b」をドラッグして、ツリーの成分グループ の中に作成された「Kathon」に移動します。解析メ ソッドを保存します。

Waters

図7. バイオサイドサンプルのUPLC™クロマトグラム



図7にバイオサイド3サンプルのUPLCTMクロマトグラ ムを示します。解析メソッド中の成分グループの作 成によって、Kathon濃度(<u>la</u>と<u>lb</u>の合計)が計算さ れ、カスタム計算式によってその計算結果が合格 の範囲にあるか不合格の範囲にあるかを判定しま す。

表1. バイオサイド試験の合否判定結果

	サンプル名	名前	濃度 (ppm)	合否判定
1	PJL07_85G	Kathon	5.03	合格
2	PJL07_85H_Low	Kathon	2.57	不合格
3	PJL07_85F_High	Kathon	7.43	不合格

表1に図7に示した3サンプルの合否判定結果を示 します。1番目のサンプルはKathon濃度定量結果 (<u>la</u>と<u>1b</u>の合計)が5.03ppmであり、合格と判定さ れました。2番目と3番目のサンプルはKathon濃度 の定量結果が判定基準から外れているため、不合 格と判定されました。

まとめ

Waters ACQUITY UPLCTM/PDAシステムとEmpower2ソフ トウエアを用いた自動定量とカスタム計算式を利用し、バ イオサイド化合物の分析から合否判定までが迅速に行え ます。このような自動定量法は、開発から品質管理・品質 保証に及ぶ分析ラボにおいて正確性と生産性を向上させ ることに役立ちます。

※Empower2の解析メソッドの作成・濃度の入力・検量線の作成など一般の定量のための操作手順については、Empower2ヘルプ画面を参照ください。

Waters

日本ウォーター	ーズ株式会社	www.wate	ers.co.jp	
東京本社 〒1	40-0001 東京都	8品川区北品川	1-3-12 第 5 小	ヽ池ビル
	TEL	03-3471-7191	FAX 03-34	471-7118
大阪支社 〒5	32-0011 大阪市	「淀川区西中島、	5-14-10 カト	キチ新大阪ビル 11F
	TEL	06-6304-8888	FAX 06-63	300-1734
ショールーム	東京	大阪		
テクニカルセン	ター 東京	大阪 名古屋	福岡 静岡	

参考文献

- P. J. Lee, A. J. Di Gioia, ACQUITY UPLC™/PDA ANALYSIS OF BIOCIDES (PART 1), Waters Corporation, Application Note, 2006.
- 2. Empower\Help\Custom Field.

